子宮頸部上皮における細胞増殖の ^3H -Thymidine autoradiography による研究

武岡 豊文

日本医科大学産婦人科学教室 (指導: 室岡 一教授)

緒言

子宮頸部扁平上皮癌における発癌に関しては現在まで多くの報告があるが、子宮頸部における上皮性の細胞は扁平上皮細胞および円柱上皮細胞の2種で、発癌の母細胞はこの2種のいずれかを起源とすることが理論的に考えられる。扁平上皮起源説をとる Schiller¹⁾, Meyer^{2,3)}, TeLinde & Galvin⁴⁾, Grace & Washington⁵⁾, Hamperl⁷⁾, Pemberton & Smith⁸⁾, Young ら⁹⁾, 細川¹⁰⁾らは扁平上皮の基底細胞, 陳旧性びらん辺縁部の扁平上皮の基底細胞, あるいはびらん治癒過程に新生される扁平上皮の基底細胞にその発生起源を求め、一方円柱上皮起源説をとる Pund & Auerbach¹¹⁾, Howerd ら¹²⁾, Reagan & Hicks¹³⁾, Oota & Tanaka¹⁴⁾, Thorton ら¹⁵⁾, Fluhmann¹⁶⁾, 竹内, 泉¹⁷⁾, Johnson ら¹⁸⁾, Old¹⁹⁾, 山辺²⁰⁾らは扁平円柱上皮連合部(squamo-columnar-junction)に近いところにある予備細胞(reserve cell)にその起源を求めている。近年、後者の見解が認められるような傾向となってきたが、いまだ確実な証明はなされていない。

近年、 ^3H -thymidine を用いた micro-autoradiography により DNA の代謝過程を追跡することができるようになり²¹⁾, その方法でマウスの子宮頸部組織における 20-methylcholanthrene を用いた発癌実験を永田²²⁾, 滝ら²³⁾, 美馬²⁴⁾らが報告している。その報告においても動物とヒトの発癌過程は必ずしも同じであるとはいわれていない。ヒトの子宮頸癌においても Reid²⁵⁾, Rashad & Evans²⁶⁾, Iliya & Azar²⁷⁾, 栗原²⁸⁾らの報告があるが、正常重層扁平上皮, 正常単層円柱上皮, また予備細胞の初期出現およびその増生, 過形成, 重層扁平上皮化生 (以下化生とのみ記す.), 異形成, 上皮内癌, 浸潤癌などの諸変化をきたした上皮について比較考察した報告はみられない。

TAKEOKA, TOYOFUMI

著者は ^3H -thymidine を用いた in vitro 法による microautoradiography により、子宮頸部における上記各上皮の標識細胞の分布および標識率(label-index, 以下 L.I. と記す.) の相異を検討し、子宮頸部の発癌過程解明へのアプローチを試みた。

研究材料および方法

1) 研究材料

昭和 42 年 3 月より昭和 47 年 7 月まで日本医大付属病院, 国立王子病院, 北村山公立病院, 日本医大付属第二病院を訪れた 276 名を対象とした。その内訳けは正常扁平上皮 127 例, 腺癌手術後の腔断端部扁平上皮 2 例, 正常円柱上皮 33 例, 予備細胞およびこの化生変化をおこしたものの 105 例, 異形成 10 例, 上皮内癌 11 例, 浸潤癌 30 例, 腺癌 2 例である。

2) 研究方法

松沢²⁹⁾, 高根³⁰⁾らの方法により子宮腔部の 3~4 カ所から 2~3 mm³ の組織片を biopsy により採取し、生食水で洗浄した後、 ^3H -thymidine (specific activity 5.0 mC/mM, 第一製薬) 2 $\mu\text{C}/\text{ml}$ を含む培養液 (Eagle MEM) 4 ml に移し、振盪恒温槽で 37°C, 1 時間 incubate した。その後 10% 中性ホルマリン液で 24 時間固定し、パラフィン包埋を行ない、厚さ 4 μ にて各標本 30~50 枚の連続切片を作製した。この切片を脱パラフィン後暗室にて小西六製高感度オートラジオグラフィー用乳剤 NR-M₂ を dipping 法で塗布し、室温で 1 時間乾燥後乾燥剤シリカゲルを入れたオートラジオグラフィー用暗箱に入れ、4°C で 4 週間露光させた。露光後レントゲン用現像液 (コニドール X, 小西六工業 K.K.) を用いて 20°C で 6 分間現像を行い、3 分間水洗し、コニフィックス (小西六工業 K.K.) で 20°C 12 分間定着し、10 分間以上水洗後、H.E. 染色を行なった。

細胞標識率 (L.I.) の算定にあたっては、上皮の基

表 1 子宮腔部正常扁平上皮の L.I. (%)

	年齢	基底層および旁基底層の L.I.	基底層の L.I.		年齢	基底層および旁基底層の L.I.	基底層の L.I.		年齢	基底層および旁基底層の L.I.	基底層の L.I.
1	47	2.17	0	44	34	5.00	0	87	63	6.43	0
2	31	2.56	0.31	45	48	5.00	0	88	37	6.52	0
3	48	2.70	0.50	46	44	5.04	0	89	36	6.57	2.07
4	51	2.81	0	47	47	5.05	0	90	40	6.67	0
5	27	2.92	0	48	27	5.11	0.67	91	46	6.89	0
6	50	3.09	0.59	49	48	5.14	0.40	92	44	6.90	2.00
7	49	3.09	1.91	50	38	5.15	0.50	93	29	7.02	0.25
8	50	3.18	0	51	31	5.16	0.33	94	33	7.10	1.67
9	36	3.19	0	52	50	5.16	0	95	41	7.20	1.32
10	32	3.38	0.40	53	54	5.22	0.32	96	30	7.29	0
11	23	3.44	1.74	54	29	5.34	0	97	40	7.50	0
12	36	3.80	0	55	46	5.35	0	98	59	7.59	0
13	45	3.81	0	56	41	5.38	0	99	59	7.60	1.02
14	45	3.81	0	57	44	5.43	0	100	46	7.79	0
15	46	3.82	0.42	58	28	5.43	0	101	52	7.86	0.67
16	47	3.89	0	59	46	5.48	0.17	102	55	7.86	0
17	50	4.08	0	60	33	5.50	0.15	103	36	7.92	0
18	50	4.08	0	61	48	5.54	0	104	41	7.98	0
19	37	4.09	0	62	44	5.54	0	105	50	8.00	1.61
20	32	4.15	0.44	63	43	5.54	0	106	46	8.28	2.33
21	50	4.17	0.72	64	40	5.56	0.21	107	54	8.30	0.67
22	50	4.18	0	65	48	5.58	0	108	32	8.32	1.50
23	27	4.20	0	66	46	5.59	0	109	34	8.33	0.27
24	33	4.25	0.49	67	31	5.63	0.83	110	26	8.54	0
25	48	4.38	0	68	43	5.63	0	111	38	8.84	0
26	47	4.38	0	69	40	5.71	0.37	112	50	9.32	4.29
27	50	4.38	0	70	48	5.71	0	113	40	10.00	0
28	49	4.43	0.29	71	42	5.73	0	114	25	10.00	0
29	55	4.44	0	72	35	5.91	0	115	73	10.09	0
30	35	4.49	0	73	37	5.96	0	116	43	10.18	0
31	40	4.50	0	74	31	6.07	0	117	44	10.22	2.73
32	43	4.56	0.31	75	45	6.12	0	118	33	10.45	15.71
33	29	4.69	1.11	76	33	6.15	0	119	35	10.45	0
34	33	4.72	0	77	33	6.15	0	120	43	11.14	0
35	43	4.80	0	78	32	6.15	0.38	121	39	11.24	0
36	43	4.80	0	79	44	6.17	0	122	31	11.31	0
37	54	4.84	0.71	80	43	6.21	0	123	46	11.41	0.49
38	46	4.86	0	81	25	6.21	0.36	124	27	11.62	0.42
39	37	4.90	0	82	41	6.28	0.57	125	39	12.50	6.88
40	50	4.93	0	83	50	6.30	0	126	48	13.30	7.50
41	49	4.95	0.26	84	57	6.31	0	127	67	14.58	0
42	44	5.00	0.67	85	49	6.36	0	平均		6.18	0.52
43	36	5.00	0	86	25	6.40	0				

表 2 子宮腔部正常扁平上皮の各層における標識細胞の分布

層	標識細胞の分布					計
	(-) L.I. 0%	(±) 0.01~2.00%	(+) 2.01~5.00%	(++) 5.01~10.00%	(+++) 10.01%~	
基底層	79(62.2%)	41(32.3%)	4(3.4%)	2(1.7%)	1(0.8%)	127(100%)
基底層および旁基底層	0(0%)	0(0%)	45(35.4%)	69(54.3%)	13(10.3%)	127(100%)
中間層	127(100%)	0	0	0	0	127(100%)
表層	127(100%)	0	0	0	0	127(100%)

表1の L.I. の程度を (-)~(++) に分類した。

底層から標識されている細胞層までにある細胞核 1,000~2,000 個を数え、それらのうち標識されている細胞核数を百分率で表わした。バックグラウンドを除外するため、一核内 5 個以上銀粒子がみられたものを標識された細胞と制定した。

研究成績

1. 正常扁平上皮

i) 正常子宮腔部扁平上皮 127 例について：標識細胞の分布状態を検討すると、表 1.2 ならびに写真 1 a' b に示すように基底層には意外に少なく、ほとんどが旁基底層、多くは基底層より 2 層目の細胞に限られ、中間層、表層への取込みは全例に認められなかった。ときに旁基底層の増殖のある場合には 2~6 層への取込みを認めた(写真 2, 3)。基底層への取込みはあってもその標識細胞はわずかであった(写真 4)。

ii) 標識率について：基底層および旁基底層においては最低 2.17% から最高 14.58% であったが、その状態は図 1 のようになる。すなわち、正常扁平上皮にお

図 1 正常扁平上皮における細胞標識率 (L.I.)

いては L.I. は 5.0~6.0% のものが多く、平均 6.18% となった。基底層における L.I. は 127 例中 79 例が 0% であり、48 例に取込みをみたがその大部分は 1% 以下で、平均は 0.52% ときわめて低いものであった(表 1)。

参考：腫瘍手術後 1 カ月以内の断端部腔扁平上皮の

表 3 腫瘍手術後の断端部腔上皮の L.I.(%)

	年齢	基底層および旁基底層を併せた L.I.	基底層の L.I.
1	75	19.10	23.63
2	50	28.64	46.84
平均		23.87	35.26

表 4 子宮腔部円柱上皮の L.I.(%)

	年齢	成熟円柱上皮の L.I.		年齢	未熟円柱上皮の L.I.
1	46	0	1	36	0
2	46	0	2	49	0
3	32	0	3	36	0.61
4	33	0	4	44	0.67
5	39	0	5	39	1.54
6	41	0	6	31	1.82
7	59	0	7	23	3.02
8	31	0	8	38	3.33
9	23	0	9	28	3.47
10	31	0	10	23	3.71
11	29	0	11	39	5.00
12	27	0	12	48	6.00
13	36	0	13	49	10.00
14	33	0	14	34	16.74
15	32	0.07	15	47	20.00
16	34	0.17			
17	29	1.09			
18	38	2.44			
平均		0.21	平均		5.06

2 例では基底層と旁基底層とあわせて平均 23.87% であり、とくに基底層においては 35.26% と高い L.I. を示した。このことは前述した正常子宮腔部扁平上皮の場合の L.I. および標識細胞の分布における態度とは異なった所見であった(表 3, 写真 5 a, b)。

2. 円柱上皮

i) 成熟円柱上皮(高円柱上皮) 18 例について、その取込みを検討すると表 4 のようになり 14 例が取込みまず、わずかに 4 例に取込みをみたが、その L.I. は低く平均 0.21% であった。高円柱上皮でも分化の進んだ、核が扁平で細胞の基底部に偏在した細胞においては 10 例中 10 例とまったく取込みが認められず(写真 6)、核が基底部に偏在しても、縦に長い楕円形の核をもつ高円柱上皮 4 例では 0.07~2.44% とわずかながら取込みを認め、まだ分裂能力をもっていることを示した(写真 7)。

ii) 未熟円柱上皮(低円柱上皮) 15 例では、成熟円柱上皮と異なって取込みをみるが、その L.I. は 0~20.00% と大きなばらつきがあり、平均標識率は 5.06% となった(写真 8)。いま未熟円柱上皮群と成熟円柱上皮群について ³H-thymidine の取込みを比較すると表 5 のように両者間に有意差があり ($p=3.74 \times 10^{-4}$)、成熟円柱上皮群は取込みの少ないものが多い(図 2)。

表 5 未熟円柱上皮および成熟円柱上皮の
³H-Thymidine の標識率の比較

円柱上皮	L.I.	1%未満	1%以上	計
未熟円柱上皮		4	11	15
成熟円柱上皮		16	2	18
計		20	13	33

$$p=3.74 \times 10^{-4}$$

図 2 円柱上皮における細胞標識率 (L.I.)

3. 予備細胞および扁平上皮化生

i) 予備細胞および化生変化 105 例についてみると、この L.I. のばらつきは 0.67~27.88%と大きく平均 5.49%となった。これを①予備細胞の初期出現 (円柱上皮下の基底膜上に類円柱の明るい核をもつ予備細胞が一列に現われる)、②増生 proliferation (出現した予備細胞が円柱上皮下で多層化して 3~7 層となり、円柱上皮は剥離して欠く場合もあるが分化傾向を欠く)、③過形成 hyperplasia (予備細胞が 8~10 層またはそれ以上に多層化し、軽度の分化傾向をもってく。また、円柱上皮は剥脱する)、④化生 metaplasia (層形成が完成に近づき、ほぼ重層扁平上皮の形態を整えてくる) の 4 期に別けて観察すると^{31,32)}、①初期出現の 5 例では L.I. は 1.50~8.00%の間で平均 3.94% となり (写真 9)、②増生の 50 例では 0.67~

図 3 予備細胞およびその変化過程における細胞標識率 (L.I.)

表 6 予備細胞およびその化生変化の L.I. (%)

1. 予備細胞初期出現			34	29	4.10	24	53	6.31
	年令	L.I.	35	34	4.55	25	46	6.48
			36	23	4.62	26	23	6.67
1	44	1.50	37	32	5.71	27	43	7.19
2	34	2.00	38	41	6.21	28	60	7.80
3	24	3.20	39	49	6.61	29	48	7.85
4	39	5.00	40	75	7.05	30	25	7.86
5	33	8.00	41	33	8.46	31	42	8.06
平均			42	47	8.65	32	37	8.23
			43	41	9.00	33	41	8.52
2. 予備細胞増生			44	29	9.62	34	51	10.50
1	42	0.67	45	24	10.29	35	29	10.87
2	41	0.70	46	42	10.84	36	33	11.08
3	29	1.00	47	41	10.91	37	40	11.85
4	41	1.02	48	51	11.56	38	41	11.92
5	50	1.29	49	46	13.60	39	31	12.12
6	32	1.45	50	27	21.27	40	39	14.00
7	41	1.60	平均		4.59	41	35	27.88
8	44	1.67				平均		6.18
9	44	1.72						
10	46	1.75						
11	33	1.79						
12	36	1.79						
13	46	1.95						
14	48	2.00						
15	29	2.15						
16	24	2.20						
17	49	2.22						
18	38	2.29						
19	30	2.30						
20	34	2.31						
21	45	2.43						
22	51	2.50						
23	43	2.56						
24	50	2.86						
25	35	2.98						
26	36	3.08						
27	29	3.20						
28	45	3.46						
29	53	3.57						
30	46	3.78						
31	38	3.99						
32	33	4.00						
33	39	4.03						

21.27%, 平均 4.59%, ③過形成の 41 例では 0.67~27.88%, 平均 6.18%, ④化生の 9 例では 2.93~12.46%, 平均 8.20% となった (表 6)。また、それぞれの L.I. のばらつきは図 3 に示すごとく大きい。

ii) 標識細胞の分布は予備細胞増生では基底層から表層に到るまで標識細胞を認め、これは分化傾向を欠く組織学的所見に一致し、全層において分裂能力を有

することが認められたが(写真 10 a, b, 11), 過形成(写真 12), 化生(写真 13 a, b) と分化傾向が現われ, 進行すると, 正常扁平上皮の基底層に相当する部に標識細胞が多数認められる傾向を示し L.I. の高率化が認められた。

4. 異形成 (dysplasia)

i) 標識細胞の分布は 10 例中 3 例では基底層近くに限定されたが, 他の 7 例では表層の細胞まで取込みを認めた(写真 14)。すなわち, 正常扁平上皮の中間層以上の細胞, 予備細胞過形成および化生などの分化した細胞においては取込みを認めないが, この異形成においては浸潤癌と同様に分化の進んだ表層の細胞も標識されることが特徴的な所見であった。

ii) 異形成 10 例の L.I. は 1.54~20.56%の間にばらつき, その平均は 11.32%となった(表 7)。一般に正常扁平上皮, あるいは予備細胞およびその化生変化組織に比較し異形成では高い L.I. を示した。しかし, L.I. のばらつきからみると正常扁平上皮のようなばらつきを示さず, むしろ予備細胞およびその化生変化のごとく大きなばらつきが認められた(図 4)。

表 7 異形成の L.I. (%)

	年齢	L.I.
1	52	1.54
2	49	5.89
3	36	6.57
4	54	9.10
5	24	11.00
6	38	11.20
7	45	11.36
8	38	16.60
9	38	19.33
10	41	20.56
平均		11.32

図 4 異形成・上皮内癌・浸潤癌における細胞標識率 (L.I.)

5. 上皮内癌 (carcinoma in situ)

i) 標識細胞の分布は異形成と同様に全層におよんだ。上皮内癌は例外的に分化型を認めるが, 一般的には基底層から表層への分化を欠き, 全層が癌様細胞で置換されるものである。本研究では上皮内癌 11 例中分化型はまったくみられず, 基底層から表層まで一様な取込みを認めた。すなわち, 基底層から表層にいたるまで同等な分裂能力をもつ細胞によって占められていることが認められた(写真 15, 16)。この分布は予備細胞増生組織の標識細胞分布と同様であった。なお, 分化型の上皮内癌例がないため, この上皮内癌における角化細胞の分裂能力の有無については証明できなかった。

ii) 上皮内癌 11 例の L.I. は最低 5.83%から最高 21.02%, その平均は 12.41%と異形成のそれよりやや高い値を示したが(表 8), その L.I. のばらつきは異形成と同様に幅広いばらつきを示した(図 4)。

表 8 上皮内癌の L.I. (%)

	年齢	L.I.
1	46	5.83
2	39	8.44
3	38	9.24
4	44	10.00
5	54	10.29
6	50	11.71
7	41	11.74
8	57	12.38
9	40	17.65
10	57	18.14
11	52	21.02
平均		12.41

6. 浸潤癌 (invasive carcinoma)

i) 標識細胞の分布は症例によってもまた同一症例でも部位によって異なるが, 一般に未分化型の癌では一様弥散性な分布を示す。分化型の癌では角化部に取込みを認めない症例(8 例中 2 例, 25%)と, 認められる症例(8 例中 6 例, 75%)とがあった。すなわち, 未分化型の症例では上皮内癌様の分布を示すが(写真 17), 分化型のものでは異形成において表層, すなわち分化の進んでいる部に取込みを認めるように, 角化部においても標識される例が 8 例中 6 例に認められた(写真 18)。

ii) 浸潤癌 30 例の L.I. については, 平均 14.65%, そのばらつきは 2.98% から 31.74%と大きく(図 4), さらにこれを未熟型 8 例, 中間型 14 例, 成熟型

表 9 浸潤癌の L.I. (%)

	年令	L.I.	成熟度		年令	L.I.	成熟度
1	40	2.98	未熟型	19	48	16.00	中間型
2	59	3.90	中間型	20	30	16.00	未熟型
3	62	6.76	成熟型	21	36	16.60	中間型
4	49	6.79	成熟型	22	59	17.08	未熟型
5	56	8.38	中間型	23	50	17.30	成熟型
6	43	9.60	中間型	24	42	17.54	中間型
7	73	10.11	未熟型	25	38	17.66	中間型
8	75	10.23	未熟型	26	59	24.05	中間型
9	74	10.47	成熟型	27	49	25.32	成熟型
10	59	10.52	未熟型	28	42	25.35	成熟型
11	68	12.00	成熟型	29	42	26.45	中間型
12	47	12.26	中間型	30	68	31.74	中間型
13	63	12.52	成熟型	平均			14.65
14	60	13.43	中間型	付 腺癌			
15	81	13.70	未熟型	1	43	8.67	(頸部)
16	55	13.93	中間型	2	50	11.48	(体部)
17	65	15.22	未熟型				
18	45	15.69	中間型				

8 例と別けてみると、それぞれの平均標識率は 13.23%、16.23%、15.81%となり、分化傾向と標識率の間にはまったく相関がない結果となった。

iii) 頸部円柱上皮癌の 1 例では 8.67% (写真 19)、体部円柱上皮癌の 1 例では 11.48%の L.I. を示した (写真 20, 表 9)。

総括ならびに考察

子宮頸部腺癌が内頸部円柱上皮から発生することは現在異論はないが、一方扁平上皮癌における母細胞については Meyer^{2,3)} が扁平上皮の基底細胞 (basal cell) にその由来を求めて後、多くの学者により basal cell 起源説についての報告がなされてきた⁴⁻¹⁰⁾、その後太田ら¹¹⁾ が円柱上皮起源説を提唱して以来、S.C.J. 近くにある幼若円柱上皮と考えられる reserve cell にその起源を求める者が多くなってきた¹¹⁻²⁰⁾。ここで扁平上皮、円柱上皮、予備細胞およびその化生変化、異形成、上皮内癌および浸潤癌について細胞の DNA 合成期に取込まれると考えられている ³H-thymidine の動態を観察してみた結果、以下にのべるような成績をえた。

1. 正常扁平上皮

正常扁平上皮の各層の細胞核における DNA の量は Stoll²³⁾ によると基底細胞、旁基底細胞は(++)、中間層細胞、表層細胞では(+)としているが、³H-thy-

midine の取込みとは一致しない。これは Stoll の示した各細胞層の DNA の量と細胞の分裂速度とがかならずしも一致するものでないことを示している。

永田²²⁾、滝ら²³⁾の 20-Methyl cholanthrene を用いたマウスによる発癌実験では、³H-thymidine の取込みはほとんど基底層にかぎり、永田はその基底層における L.I. は 5~20%であったといっている。御園生、栗原²⁶⁾らのヒトにおける、研究では著者と同様に ³H-thymidine の取込みはほとんど旁基底層にかぎられており、栗原は旁基底層における L.I. は 12.57%、基底層では 1.17%として、George³⁴⁾ も同様な成績をえている。Rashad ら²⁴⁾、Reid²⁵⁾、Iliya ら²⁷⁾ はヒトにおいては ³H-thymidine の取込みは基底層、旁基底層にかぎられ、その L.I. は 5%を越えないとしている。しかし、今回の成績では 5%を越しており、栗原の成績より低いが従来までの報告ではいずれも症例数が少ないため、その検討は個々の症例にとどまっており、その点 127 例と多数を検討した本研究では、その信頼度を高めたものと考えられる。つぎにマウスにおいて標識細胞の分布はほとんど基底層に、またヒトでは旁基底層にかぎられているが、これはマウスでは細胞分裂の場が基底層にあるのに反し、ヒトのそれが旁基底層にあることを意味し、発癌の過程がかならずしも動物とヒトとでは同一でないことを示すものと思われる。

Schellhas³⁵⁾、Averette ら³⁶⁾ はヒトの子宮腔部、腔扁平上皮の基底細胞が reserve cell の役割をはたしているとしており、旁基底層の generation cycle が 3 日であるのに対し、基底層のそれが 30 日であるとしている。浦野³⁷⁾も基底細胞は reserve cell と発生学的に同じであるとしている。本研究においても基底細胞における標識率の低さは旁基底細胞とは異なった性格をもつものと考えられる。

腺癌手術後の断端部腔扁平上皮：Averette ら³⁶⁾によると正常卵巢機能婦人では腔扁平上皮も子宮腔部扁平上皮と同様に L.I. は基底層が 1.14%、旁基底層が 14.25%としている。頸癌の発生母細胞の極くわずかにはいまだ扁平上皮由来のものも否定できず、これは腺癌と同様の発生機序で説明しうるものとしている。しかし、今回の症例の腺癌手術後の腔壁扁平上皮においては子宮腔部扁平上皮とはまったく異なり、基底細胞への取込みが圧倒的に多い。このことから腺癌の発生機序は頸癌のそれと異なり、基底細胞が大きな役割を占めていることが考えられるが、これはさらに多くの症例について検討する必要があると思われる。

2. 円柱上皮

滝²³⁾によるとマウスの正常円柱上皮の L.I. は平均 12.9% としている。Reid²⁵⁾ はヒト子宮頸部の tall columnar cell では ³H-thymidine の取込みを認めず、short columnar cell および cuboidal cell においては 1/5,000 以下の取込みを認めるといっている。

本研究においても高円柱上皮はほとんど ³H-thymidine の取込みを示さず、分泌の機能はもっているが成熟の最終段階であり、すでに分裂の能力はもっていないものと考えられる。低円柱上皮では Reid の報告よりさらに高い L.I. を示し、さらに分裂しながら成熟してゆくことを示している。

3. 予備細胞および化生の過程

Howerd¹²⁾ により命名された reserve cell は subcylindrical basal cell, indifferent cell, infraepithelial cell, primitive cell, embryonal cell などの名称で呼ばれてきた。この細胞の起源に関しては扁平上皮由来説³⁸⁾、胎生期末分化細胞説^{12,39)}、幼若円柱上皮説⁴⁰⁾ などがあげられているが、現在では幼若円柱上皮説が有力となっており、本細胞は円柱上皮および扁平上皮のいずれへも変化する multipotential な性質を有する細胞と考えられている⁴¹⁾。この細胞は estrogen, 妊娠, 外傷, 感染などが誘因となり出現するとされているが^{12,17,31)}、遠藤ら³²⁾によると reserve cell の出現頻度は成人頸管の 89% にみだされずとしており、その所見は極く普通にみられるものであるという。これを初期出現, 増生, 過形成, 化生と分けてみると、今回の成績では L.I. はこの順にじょじょに増加するが、このばらつきは図 3 のごとく大きかった。過形成, 化生と分化傾向が進んでくると、標識細胞の分布は正常扁平上皮に似てくるが、増生ではその分布は表層にまでおよび上皮内癌と似ている。

Reid²⁵⁾ は 5~10 層の metaplastic squamous epithelium においては 1~5% の L.I. を示すものが多いが、ときに 30~75% の high stage の L.I. を示すものがあり、このように化生上皮には 2 種類があるといっている。しかし、著者の成績ではこのような 2 種類に明確に分けることはできなかった。

4. 異形成

これまで atypical epithelium, atypical metaplasia, atypia, basal cell hyperplasia, atypical hyperplasia, precancerous metaplasia などと種々呼ばれ

てきたが^{42,43)}、1961年ウィーンの第1回国際細胞学会において、癌に類似する上皮異常のうち上皮内癌の基準をみたまないものに対して、この異形成 (dysplasia) の名称が与えられた。

滝ら²³⁾のマウスにおける実験では、異型増殖Ⅰ(軽度異形成)で 33.1%, 異型増殖Ⅱ(高度異形成)で 41.3%, 異型増殖Ⅲ(上皮内癌)では 60.5% の L.I. を示したといい、ヒトでは Rashadら²⁶⁾ は正常扁平上皮の 9.6% に対し異形成の 2 例では 29%, 34% の高率を示したとし、Iliyaら²⁷⁾ も異形成は上皮内癌とならんでもっとも高い L.I. をみている。栗原²⁸⁾ も正常扁平上皮、軽度異形成、高度異形成、上皮内癌と進むにつれて L.I. は増加し、標識細胞の分布は表層までおよぶとのべている。本研究においても異形成は表層まで ³H-thymidine の取込みを示し、L.I. が増加することはこれまでの報告と一致している。しかし、個々の症例においては L.I. のばらつきが大きく、このことは従来までの報告にはみられない。

5. 上皮内癌

この病変はすでに Williams (1886) により報告されて以来種々の名称で論議され、Borders (1932) により carcinoma in situ の名称を与えられたが、1961年にウィーンの第1回国際細胞学会で組織学的基準が定義された。この病変が真の癌であるかどうか⁴⁴⁾、さらに浸潤癌に移行するものであるかについては多くの学者により追跡研究がなされている。

これに対する ³H-thymidine の取込みに関して Iliyaら²⁷⁾ は severe dysplasia とともにもっとも高率としており、栗原²⁸⁾ は上皮内癌においては最高の L.I. を示すとしている。著者の研究でも異形成よりもさらに高い L.I. を示すが、個々については 5.83~21.02 % と大きなばらつきを認めた。

上皮内癌に治療を加えずに経過観察をした場合、浸潤癌に進む率は Lee, Boyd の 0% から Peterson の 33.7% と報告者により大きな差があり、また移行するにしてもその期間は栗原の最短 3 カ月から Jones の 11 年経過した後浸潤癌に移行したというようにこの差も大きい^{28,45~47)}。本研究においても L.I. に大きな差があり時には浸潤癌より高い L.I. を示す症例も多い。このように同じ上皮内癌といっても L.I. にいちじるしい差があることは、上皮内癌から浸潤癌に移行する頻度、浸潤癌に移行するまでの時間の長短と関連性がある可能性を示唆している。すなわち、L.I. の高

い上皮内癌は浸潤癌に高率にしかも短期間内に移行しやすく、L.I.の低い上皮内癌では、その逆であることが考えられる。しかし、この考えが正しいか否かはさらに研究してみる必要があり、現在までの文献にはこのような点を扱ったものはみあたらない。

6. 浸潤癌

浸潤癌の ^3H -thymidine の取込みに関しては栗原²⁸⁾はほとんど標識細胞は検出されず、また一部に取込みを認めても、その L.I. は非常に低値を示したとしている。また、Rashad²⁹⁾ は1症例から L.I. は 9.6%とし、Iliya²⁷⁾ は ^3H -thymidine の取込みはあるが上皮内癌および severe dysplasia より低いとした。滝ら²³⁾のマウスによる実験では低分化型 63.9%、成熟型 55.5%と上皮内癌とほぼ同じ L.I. を示している。本研究では L.I. の平均は上皮内癌および異形成より高い値を示したが、そのばらつきは大きかった。また、L.I. は組織の分化の程度とは関係なく、成熟型の角化部においても ^3H -thymidine の取込みのある細胞を認めたことは正常扁平上皮における様相とはまったく異なる場所であった。

予備細胞増生、異形成、上皮内癌、浸潤癌と L.I. のそれぞれの平均値がこの順序でじょじょに増加しており(図 5)、L.I. のばらつきは大きい。また、標識細胞の分布が同じように表層にまでおよんでいることは、これらの組織における細胞分裂の場が類似していることを示しており、非常に興味ある所見である。

また、浸潤癌においても 2.98%と低い L.I. を示したものがあことは、藤田⁴⁰⁾がいうように、腫瘍細胞においては generation time は長い、分裂後の細胞が分化成熟能を欠き、おのおのの細胞が generation cell compartment に入るため対数曲線的に細胞の増

生をきたすと推論していることから説明がつくが、分化型の癌細胞においても ^3H -thymidine の取込みを認めることは必ずしも分化能力を欠くとはいえず、また一般的には L.I. の高いものが多いことから必ずしもすべての腫瘍細胞において generation time が長いとはいえないものと考えられる。

以上、腫瘍手術後の扁平上皮においてみるように確実に扁平上皮起源と考えられる腫瘍では扁平上皮の基底細胞が大きな役割をはたしていると考えられる。一方、予備細胞が正常に分化した扁平上皮化生では標識細胞の分布は正常扁平上皮のそれと同じ pattern を示すが、予備細胞増生では異形成、上皮内癌、浸潤癌と同様な標識細胞の分布を示す。すなわち、子宮頸部における扁平上皮癌の母細胞が扁平上皮ではなく予備細胞である可能性も大であることを示唆しているものと考えられる。

結論

子宮頸部における正常扁平上皮、円柱上皮、予備細胞およびその扁平上皮化生、異形成、上皮内癌、浸潤癌について ^3H -thymidine を用いた microautoradiography 法により標識細胞の分布および標識率について観察した。

- 1) 標識細胞の分布：i) 正常扁平上皮ではわずかに基底層に ^3H -thymidine の取込みをみるものもあるが、標識細胞のほとんどは旁基底層に局限した。
- ii) 腫瘍手術後の断端部の扁平上皮では基底層に非常に高い ^3H -thymidine の取込みを示した。
- iii) 予備細胞増生、異形成、上皮内癌では ^3H -thymidine の取込みは基底層より表層までおよんだ。
- iv) 予備細胞過形成および扁平上皮化生と分化が進んでくると正常扁平上皮に似て旁基底層に相当する部に標識細胞が集まる傾向がある。
- v) 浸潤癌では角化細胞にまで取込みを認める症例が多くあった。

2) 標識率：i) 正常扁平上皮の基底層および旁基底層における L.I. は両者を併わせて検討すると最低 2.17%、最高 14.58%で平均は 6.18%となった。基底層のみでは 0.52%となった。

ii) 腫瘍手術後の断端部腫瘍扁平上皮の2例では基底層と旁基底層を併せて平均 23.87%、とくに基底層のみにあつては平均 35.26%と高い L.I. を示した。

iii) 成熟円柱上皮では L.I. は 0%であるが、成熟が完了していない円柱上皮では極くわずかに ^3H -thy-

図 5 上皮の各変相における平均標識率 (L.I.)

midine の取込みを認め、その平均は 0.21% と低かった。未熟円柱上皮では平均 5.06% の L.I. を認めたが、これは 0~20.00% と大きなばらつきを示した。

iv) 予備細胞では初期出現 3.94%、増生 4.59%、過形成 6.18%、化生 8.20% とその平均値はじょじょに増加したが、このばらつきも初期出現 1.50~8.00%、増生 0.67~21.27%、過形成 0.67~27.88%、化生 2.93~12.46% と大きかった。

v) 異形成では平均 11.32% であったが、これも 1.54~20.56% と大きなばらつきを示した。

vi) 上皮内癌では平均 12.41% であったが、これも 5.83~21.02% と大きなばらつきを示した。

vii) 浸潤癌では平均 14.65% であったが、これも 2.98~31.74% と大きなばらつきを示した。

viii) 浸潤癌の成熟度による平均 L.I. は未熟型 13.23%、中間型 16.23%、成熟型 15.81% となり分化傾向とはまったく関係がない結果となった。

ix) 頸部腺癌の 1 例では 8.67%、体部腺癌の 1 例では 11.48% の L.I. を認めた。

稿を終えるに臨み終始ご懸念なご指導とご校閲を賜った恩師室岡一教授に衷心より感謝と敬意を捧げます。また、本研究にご助言ご校閲を賜った鈴木正勝教授、矢島権八教授、福士勝成教授に深く感謝します。また、本研究にさいし直接のご指導ご教示を賜った埼玉医科大学吉井隆博教授に心から感謝します。最後に教職員一同のご協力に感謝します。

(本論文の要旨は第 136 回日本産婦人科学会神奈川地方部会、日本医科大学医学会第 21 回例会において発表した。)

文献

- Schiller, W.: Small preulcerative invasive carcinoma of the cervix: The spray carcinoma. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **65**, 1088, 1953.
- Meyer, R.: Basis of histologic diagnosis of cervical carcinoma, and similar lesion. *Surg. Gynecol. Obstet.*, **73**, 14, 1941.
- Meyer, R.: Histological diagnosis of early cervical carcinoma. *Surg. Gynecol. Obstet.*, **73**, 129, 1941.
- TeLinde, R.W., and Galvin, G.A.: The minimal histological changes in biopsies to justify a diagnosis of cervical cancer. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **48**, 774, 1944.
- Novak, E.: *Gynecological and obstetrical pathology; With clinical and endocrine relations*, 2nd ed. p. 71~73. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1947.
- Grace, H.G., and Washington, D.C.: The incidence and anatomical distribution of basal-cell hyperactivity and its relationship to carcinoma of the cervix uteri. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **65**, 1081, 1953.
- Hamperl, H.: Definition and classification of so-called carcinoma in situ. Ciba Foundation Study Group No. 3, p. 2~19, Boston, 1959.
- Pemberton, F.A., and Smith, G.S.: The early diagnosis and prevention of carcinoma of the cervix: A clinical pathologic study of borderline cases treated at the free hospital for women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **17**, 165, 1929.
- Young, P.A., Hertig, A.T., and Armstrong, D.: A study of 135 cases of carcinoma in situ of the cervix at the free hospital for women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **58**, 867, 1949.
- 細川勉: 女子性器から見た発癌過程の病理組織学的研究. 第 15 回日本産婦人科学会宿題報告, 産婦誌, **15**, 707, 1963.
- Pund, E.R., and Auerbach, S.H.: Preinvasive carcinoma of the cervix ut. *J.A.M.A.*, **131**, 960, 1946.
- Howerd, L., Erickson, C.C., and Stoddart, L.D.: Study of incidence and histogenesis of endocervical metaplasia and intraepithelial carcinoma; Observations on 400 uteri removed for non cervical disease. *Cancer*, **4**, 1210, 1951.
- Reagan, J.W., and Hicks, D.J.: Study of in situ and squamous-cell cancer of uterine cervix. *Cancer*, **6**, 1200, 1953.
- Oota, K., and Tanaka, M.: On histogenesis of cervical cancers of uterus, A histological study on in situ and early carcinomas. *Gann*, **45**, 567, 1954.
- Thorton, W.N., Fox, C.H., and Smith, D.E.: Relationship of squamo-columnar junction and endocervical glands to site of origin of carcinoma of cervix. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **78**, 1060, 1954.
- Fluhmann, C.F.: Carcinom in situ and transitional zone of cervix uteri. *Obstet. Gynecol.*, **16**, 424, 1960.
- 竹内正七, 泉隆一: Reserve cell について. 産と婦, **28**, 1713, 1961.
- Johnson, L.D., Easterday, C.L., Gore, H., Hertig, A.T.: The histogenesis of carcinoma in situ of the uterine cervix. A preliminary report of the origin of carcinoma in situ in subcylindrical cell anaplasia. *Cancer*, **17**, 213, 1964.
- Old, J.W.: Squamous carcinoma in situ of the uterine cervix, I. Classification and histogenesis. *Cancer*, **12**, 1598, 1965.
- 山辺徹: 子宮頸癌の組織発生に関する考察, とくに reserve cell との関連性について. 産婦人科の実験, **14**, 993, 1965.
- 古賀康八郎: ³H-Thymidine. 産と婦, **34**, 1484, 1977.
- 永田一郎: 実験的子宮頸癌発生過程のオートラジオグラフィによる研究. 産婦誌, **18**, 1057, 1966.
- 滝一郎, 飯島宏, 那須健治, 真島太郎: 子宮頸癌の発生過程—実験的な面から—. 臨産婦, **22**, 23, 1968.
- 美馬一雄: マウス子宮上皮細胞のオートラジオグラフィ的研究. 産婦誌, **22**, 342, 1970.
- Reid, B.L.: Autoradiographic analysis of uptake of tritiated thymidine and ³⁵S cystine by cultured human cervical explants undergoing metaplasia. *J. Natl. Cancer Inst.*, **32**, 1059, 1964.
- Rashad, A.L., and Evans, C.A.: Significance of

- abnormal sites of DNA synthesis in certain lesion of the human uterine cervix. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **108**, 435, 1970.
- 27) Iliya, F.A., and Azar, H.A.: Radioautographic studies in neoplasma of the uterine cervix. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **99**, 515, 1967.
 - 28) 栗原操寿: 子宮頸部の前癌病変に関する研究—とくに良性悪性をめぐる境界病変について. 第24回日本産婦人科学会宿題報告, **II**, 37, 1972.
 - 29) 松沢大樹: ラジオオートグラフィー手技と応用—p. 125, 朝倉書店, 1970.
 - 30) 高根宏展: 頸頸部の非炎症粘膜, 炎症粘膜並びに肺癆組織のオートラジオグラフィーによる解析. 日耳鼻, **73**, 811, 1970.
 - 31) Hellman, L.M., Rosenthal, A.H., Kistner, R.W., and Gordon, R.: Some factors influencing the proliferation of the reserve cells in the human cervix. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **67**, 899, 1954.
 - 32) 遠藤幸三, 森越進: 子宮頸管の reserve cell の動勢 (綜説). 臨産婦, **16**, 697, 1962.
 - 33) Stoll, P.: *Gynäkologische Cytologie* Springer-Verlag. p. 23, Berlin, 1868.
 - 34) George, K.: Metabolism of human cervical tissues, A radioautographic study. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **98**, 767, 1967.
 - 35) Schellhas, H.F.: Cell renewal in the human cervix uteri, A radioautographic study of DNA, RNA and protein synthesis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **104**, 617, 1969.
 - 36) Averette, H.E., Weinstein, G.D., and Frost, P.: Autoradiographic analysis of cell proliferation kinetics in human genital tissues, I. Normal cervix and vagina. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **108**, 8, 1970.
 - 37) 浦野礼: 子宮頸部初期癌の組織発生について—とくに予備細胞の意義—. 癌の臨床, **13**, 895, 1969.
 - 38) Meyer, R.: Die Epithelentwicklung der Cervix und Portio vaginalis uteri und die Pseudoerosion congenita. *Arch. Gynäk.*, **91**, 658, 1910.
 - 39) Carmischel, R., and Jeaffresson, B.L.: Basal cell in the epithelium in the human cervical canal. *J. Pathol.*, **49**, 63, 1939.
 - 40) Fluhmann, C.F.: The squamocolumnar transitional zone of the cervix ut. *J. Obstet. Gynecol.*, **14**, 133, 1959.
 - 41) 早田孝敬: 子宮頸部癌発生に関する臨床病理学的研究, ことに「予備細胞」reserve cell の動態に関する超微態学的所見を中心として. 日医大誌, **39**, 285, 1972.
 - 42) 栗原操寿, 筒井章夫, 黒島義男, 平尾潔: 子宮頸部の前癌病変から初期癌へ. 産婦人科の実際, **20**, 1201, 1971.
 - 43) 野田起一郎: 子宮頸 dysplasia の病理と臨床. 日産婦誌, **25**, 76, 1973.
 - 44) 三谷靖: Ca in situ. 産婦人科治療, **15**, 532, 1967.
 - 45) 細川勉: 上皮内癌の経過と予後. 産科と婦人科, **37**, 467, 1970.
 - 46) 太田邦夫: 上皮内癌あるいは Ca in situ について. 医学のあゆみ, **17**, 250, 1956.
 - 47) Fox, C.H.: Biologic behavior of dysplasia and carcinoma in situ. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **99**, 960, 1967.
 - 48) 藤田哲也: オートラジオグラフィーによる細胞増殖と分化の分析. 細胞化学シンポジウム, **14**, 275, 1964.
(受付: 1973 年11月16日)

武岡論文付図 (1)

写真 1 a 子宮腔部正常扁平上皮

写真 1 b a の強拡大、一般に基底層から2層目に取込みを認める。

写真2 旁基底層の増殖のある正常扁平上皮

写真3 旁基底層の増殖のある正常扁平上皮

写真4 子宮腔部正常扁平上皮、時に基底層に軽度の取込みを認める。

武岡論文付図 (2)

写真5 a 腔癌手術後の断端部腔扁平上皮

写真5 b a の並拡大、とくに基底層に高度の取込みを認める。

写真6 成熟円柱上皮にはまったく取込みを認めない。

写真7 成熟円柱上皮でも成熟が完了していない場合は軽度の取込みを認める。

写真8 未熟円柱上皮

写真9 予備細胞初期出現

武岡論文付図 (3)

写真10 a 予備細胞増生では全層に取込みを認める。

写真10 b aの強拡大

写真11 予備細胞増生

写真12 予備細胞過形成

写真13 a 予備細胞重層扁平上皮化生

写真13 b aの強拡大、正常扁平上皮の基底層に相当する部に取込みが認められてくる。

武岡論文付図 (4)

写真14 異形成，標識細胞は全層におよぶ。

写真15 上皮内癌，標識細胞は全層におよぶ。

写真16 上皮内癌，標識細胞は全層におよぶ。

写真17 未熟型浸潤癌，標識細胞はびまん性に分布する（下方は ^3H -thymidine が浸入していないために標識細胞がみられない．）。

写真18 成熟型浸潤癌，分化の進んだ細胞にまで取込みが認められる。

写真19 頸部円柱上皮癌

武岡論文付図 (5)

写真20 体部円柱上皮癌